

雞球蟲分離及藥物感受性試驗

陳素貞* 吳義興 楊喜金

台灣省家畜衛生試驗所生物研究系

3-11

摘要 1994年7月至1995年6月，由台灣中北部分離到球蟲8株，其中 *Eimeria tenella* 6株，另2株球蟲未鑑定種名。選取代表性3株 *E. tenella* 在SPF（無特定性病原）雞，進行6種抗球蟲藥的預防效力試驗，選用的藥物包括 amprolium (120 ppm)、lasalocid (75 ppm)、maduramicin (5 ppm)、nicarbazin (125 ppm)、salinomycin (60 ppm) 及 Esb3 (150 ppm)。結果有1蟲株對上述6種藥都有抗藥性，另外2株則分別只對 nicarbazin、amprolium 及 Esb3 有不同的感受性，由此可知台灣某些球蟲株對藥物的抗藥性頗為嚴重。

關鍵詞：球蟲，藥物感受性

緒言

雞球蟲為雞隻一種重要的寄生蟲性疾病^[8]，於1978年本省即有9種球蟲存在^[1]。飼養者必須於飼料中添加抗球蟲藥以防治本病，但長期使用藥物，使球蟲對藥物產生抗藥性，降低用藥的效果^[3, 4, 6, 7]，因此需更換新藥。近來使用之離子型抗球蟲藥，效果良好且廣被使用，自1985年李報告有關3種攜離子型抗球蟲藥的預防效力試驗^[2]，至今未有相關的報告。本實驗由發生球蟲病雞場分離球蟲株，並選取 *Eimeria tenella* (*E. tenella*) 進行其對目前之抗球蟲藥感受性試驗，供現場用藥參考。

材料與方法

球蟲之分離與增殖

由發生球蟲雞場採取下痢便，保存於2.5%重鉻酸鉀溶液中攜回實驗室，以100及150 mesh 網目之金屬網過濾，濾液以3000 rpm 離心10分鐘，沉澱物與少量2.5%重鉻酸鉀薄層混合，置於9公分培養皿中，於28℃之恆溫箱使卵囊芽胞化。球蟲種名以引起雞腸管病變的部位鑑別之。保存芽胞化球蟲以3週齡SPF（無特定性病原）

*抽印本索取作者

台灣省家畜衛生試驗所

雞繼代增殖，球蟲株只採取引起盲腸出血病變的 *E. tenella*，進行球蟲藥預防效力試驗，蟲株於感染前再繼代3次。

蟲卵計數

在100 mL 芽胞化之卵囊中，取1 mL 與8 mL 飽和食鹽水充分攪拌後，立即取0.3 mL 置EPG計算盤（McMaster改良型）內，靜置5~10分後以100倍光學顯微鏡計算卵囊數，所得卵囊數再乘以3,000即為總卵囊數。

實驗雞

由動物用藥品檢定分所（崎頂），購入2~3週齡SPF雞隻，一組5~6隻置於同一籠中，籠子懸空掛於牆壁。以四健牌未添加藥品飼料及自來水任飼。

實驗設計

選取台中、楊梅、宜蘭C共3株球蟲株進行球蟲藥預防效果試驗^[5]，每次實驗雞隻分8組，每組5~6隻。陰性對照組（無給藥無攻擊蟲卵），陽性對照組（攻擊蟲卵不給藥），其餘6組分別給各種球蟲的預防劑，任飼，使用的球蟲藥及其劑量分別為 amprolium (120 ppm)、lasalocid (75 ppm)

、maduramicin (5 ppm)、nicarbazin (125 ppm)、salinomycin (60 ppm) 及 Esb3 (150 ppm)，前 4 種加在空白飼料中，後 2 者加在飲水中，並持續給藥至球蟲感染後 7 天。

各組給不同藥物 4~6 天後，由嚙囊投與 50,000 (台中株) - 100,000 (楊梅株及宜蘭 C 株) 個卵囊 / 隻，蟲卵感染 5 天後，每天觀察其排便情形，感染後 7~10 天全部解剖觀察病變，依 Reid 標準記錄病變指數^[9]，比較各組症狀及病變指數的差異性。給藥、感染及解剖之前所有雞隻皆稱重，並計算其前後體重變化比較各組的差異。

統計分析

經變方分析 (ANOVA) 後，以 Newman Keuls multiple comparisons 方法，比較實驗組與陰性對照組之間差異的顯著性 ($\alpha = 0.05$)^[11]。以 Fisher's exact test 檢定各組間死亡率差異的顯著性 ($\alpha = 0.05$)^[10]。

結 果

球蟲的分離

1994 年 7 月至 1995 年 6 月，共分離出 8 株球蟲 (表 1)。其中 *E. tenella* 最多，共 6 株；其他引起小腸出血蟲株，未能依部位得知種名的球蟲 2 株，飼料添加的預防藥物，包括 monensin、salinomycin、nicarbazin 等，於限飼後或墊料潮濕爆發球蟲。現場使用的治療藥物包括 amprolium、Esb3、Ectecin。

球蟲對藥物的感受性試驗

台中株 在增重方面，感染球蟲後，陽性對照組之增重比陰性對照組顯著為輕 (表 2) ($P < 0.05$)，6 種抗球蟲藥中，只 amprolium 及 lasalocid 可使感染雞體重回復，與陰性對照組相同 ($P > 0.05$)。在血便及盲腸病變指數之結果，6 種抗球蟲藥皆沒有預防腸管病變發生的效果。此次試驗不論對照組與實驗組皆無雞隻死亡。

表 1 分離球蟲株之臨床資料

日期	地點	雞種	年齡	球蟲品種	飼料添加 預防藥	飲水添加 治療藥
1994.11	宜蘭 A	肉種雞	4 週	未鑑別	monensin	amprolium
1994.11	宜蘭 B	肉種雞	5 週	<i>E. tenella</i>	lasalocid	amprolium
1994.12	楊梅	肉種雞	2 週	<i>E. tenella</i>	salinomycin	amprolo plus nicarbazine ectecin
1995.01	宜蘭 C	肉種雞	5 週	<i>E. tenella</i>	monensin	amprolo plus Esb3
1995.01	竹北	肉種雞	2 週	<i>E. tenella</i>	不詳	不詳
1995.02	台中	不詳	5 週	<i>E. tenella</i>	不詳	不詳
1995.03	桃園	土雞	7 週	<i>E. tenella</i>	不詳	未治療
1995.05	苗栗	肉種雞	11 週	未鑑別	amplo plus	ectecin

表 2 不同抗球蟲藥對雞感染台中株球蟲的預防效果

給藥情形	體重變化(g)	症 狀		盲腸出血病變					總病變值	病變百分比 (%)
	感染至感染後7天	沉鬱	血便	-	+1	+2	+3	+4		
陰性對照	98 ± 23	-	-	5					0	0
陽性對照	38 ± 25*	-	++++		1		1	3	16	100
amprolium	94 ± 59	-	++		2	1	2	1	13	81
lasalocid	90 ± 33	+	+	1	1	1	2		10	63
maduramicin	15 ± 54*	++	++		1	1	2	2	15	94
nicarbazin	58 ± 21*	+	+++			1	1	1	10	63
salinomycin	4 ± 42*	+++	+++			1	1	3	17	106
Esb3	16 ± 12*	++++	++++				2	2	15	94

註：每組 5 隻，攻蟲數 50,000 / 隻

Mean ± SD，攻蟲後 7 天皆無死亡，全部解剖

* 表示與陰性對照組比較有顯著性差異 (P<0.05)

楊梅株 6 種藥給與後 4 天，不影響雞隻體重（表 3）。球蟲感染後除了 nicarbazin 組可回復未感染的體重外，其餘皆降低。在臨床症狀方面只 amprolium、nicarbazin 可以改善，其餘皆示

沉鬱及血便，病變指數方面則以 amprolium、lasalocid、nicarbazin 及 Esb3 較好，但也無法完全防止病變的發生。死亡率方面則以 salinomycin 最高達 5/6，與陽性對照組相同。

表 3 抗球蟲藥及楊梅株球蟲感染對實驗雞體重的影響

給藥情形	體 重 變 化 (g)	
	給藥至給藥後 4 天	感染至感染後 7 天
陰性對照	43 ± 24 (6)	40 ± 20 (6)
陽性對照	43 ± 10 (6)	-30 (1)*
amprolium	53 ± 17 (6)	13 ± 12 (5)*
lasalocid	52 ± 18 (6)	- 6 ± 24 (5)*
maduramicin	47 ± 12 (6)	0 ± 37 (5)*
nicarbazin	50 ± 6 (6)	40 ± 18 (6)
salinomycin	50 ± 15 (6)	0 (1)*
Esb3	52 ± 14 (6)	23 ± 26 (6)

註：每組 6 隻，攻蟲數 100,000 / 隻。

Mean ± SD，() 內為隻數，n<6 者皆因球蟲死亡

* 示與陰性對照組比較有顯著性差異 (P<0.05)

表 4 不同抗球蟲藥對雞感染楊梅株球蟲的預防效果

給藥情形	症 狀		盲腸出血病變					總病變值	病變百分比 (%)	死亡數
	沉鬱	血便	-	+1	+2	+3	+4			
陰性對照	-	-	6					0	0	0
陽性對照	++++	++++			1		5	21	100	5*
amprolium	-	+	5				1	4	19	1
lasalocid	+++	++++	4	1			1	5	24	1
maduramicin	+++	++++	2	1	1	1	1	10	48	1
nicarbazin	-	+	2	3	1			5	24	0
salinomycin	++	+++				1	5	21	100	5*
Esb3	++	++	4	2				2	10	0

註：每組 6 隻，攻蟲數 100,000 / 隻

* 示與陰性對照組比較有顯著性差異 (P<0.05, Fisher's exact test)

宜蘭 C 株 在增重方面，球蟲感染後陽性對照組之增重比陰性對照組顯著為輕 (p < 0.05)，6 種測試的球蟲藥中，只 nicarbazin 有效，可使感染雞體重回復，與陰性對照組相同 (表 5)。在臨

床症狀之改善以 amprolium, nicarbazin 及 Esb3 效果最好，病變方面則以 nicarbazin 及 Esb3 最少 (表 6)。

表 5 抗球蟲藥及宜蘭 C 株球蟲感染對實驗雞體重的影響

給藥情形	體 重 變 化 (g)	
	給藥至給藥後 3 天	感染至感染後 10 天
陰性對照	32 ± 11 (6)	75 ± 16 (6)
陽性對照	43 ± 10 (6)	-23 ± 17 (4)*
amprolium	48 ± 17 (6)	22 ± 26 (6)*
lasalocid	62 ± 16 (6)	16 ± 5 (3)*
maduramicin	48 ± 9 (6)	46 ± 24 (5)*
nicarbazin	57 ± 13 (6)	72 ± 9 (6)
salinomycin	42 ± 11 (6)	40 ± 24 (2)*
Esb3	52 ± 20 (6)	52 ± 19 (6)*

註：每組 6 隻，攻蟲數 100,000 / 隻。

Mean ± SD, () 內為隻數, n<6 者皆因球蟲死亡

* 示與陰性對照組比較有顯著性差異 (P<0.05)

表 6 不同抗球蟲藥對雞感染宜蘭 C 株球蟲的預防效果

給藥情形	症 狀		盲腸出血病變					總病變值	病變百分比 (%)	死亡數
	沉鬱	血便	-	+1	+2	+3	+4			
陰性對照	-	-	6					0	0	0
陽性對照	++++	++++	1	2			3	14	100	2
amprolium	-	-	5	1				2	14	0
lasalocid	++	++	2			1	3	13	93	3*
maduramicin	++	++	3		1	1	1	9	64	1
nicarbazin	-	-	6					0	0	0
salinomycin	++	++		1			5	21	150	4*
Esb3	-	-	6					0	0	0

註：每組 6 隻，攻蟲數 100,000 / 隻

* 示與陰性對照組比較有顯著性差異 (P<0.05, Fisher's exact test)

討 論

由肉雞場及種雞場同時進行收集蟲卵，但所收集的球蟲大都來自種雞場，肉雞場很少發生球蟲病，因肉雞的飼養期較短，且不必限飼，故發生的機會較少。種雞飼養期較長，需由感染獲得主動免疫，種雞限飼時，因食入抗球蟲藥較少增加發病的機會，所以在我們收集的蟲卵以種雞場為主。

蟲卵攻擊的數目會影響雞隻的發病，*E. tenella* 於接種數千個就可造成雞的血便^[9]。本實驗第 1 次感染採取 50,000 個/隻，後來為 100,000 個/隻，前者有嚴重病變但未造成死亡，後者則有死亡，因每次都有陰性與陽性對照，所以蟲卵數的差異並不影響實驗的結果。

Esb3 僅用於治療，但此為預防試驗，為與其他藥物及對照配合，由推薦的治療劑量 300 ppm 減半成為 150 ppm。

雞場使用治療藥物與球蟲藥的抗藥性似無關聯，如楊梅株之種雞場飼料中，平常就添加攜離子抗生素，發病時再以 amprolium、nicarbazin 及 Ectecin 治療，而 nicarbazin 及 amprolium 尚有一些效果；宜蘭株種雞場添加攜離子抗生素，發病時再以 amprolium、Esb3 及其他磺胺劑治療，結果 Esb3 及 amprolium 尚有預防效果，此可能因治療使用時間很短且不頻繁之故。

本研究使用的抗球蟲藥包括多種攜離子抗生素、尿素系(nicarbazin)、維生素 B₁ 衍生物的合劑(amprolium)及磺胺劑(Esb3)但預防效果並不理想，由此可知本省球蟲已有明顯的抗藥性產生。

攜離子型抗球蟲藥在台灣使用多年，最近分離的少數蟲株已顯著對其產生抗藥性，此結果可供養雞業使用抗球蟲藥時，考慮改用其他輪替藥物之參考。

參考文獻

1. 李永基、劉錦志。本省分佈之雞球蟲病病原調查。中華民國獸醫學會雜誌 4：81-87, 1978.
2. 李永基、古口治、劉錦志、方柏雄、翁麗珍。Maduramicin Ammonium (Cygro) 對雞球蟲之預防效力試驗 (II) 對 *Eimeria necatrix* 之感染預防效力試驗。中華民國獸醫學會雜誌 11：197-204, 1985.
3. Brewer, R. N. and L. M. Kowalski. Coccidiosis: Evaluation of anticoccidial drugs in floor-pen trials. *Exp Parasitol* 28：64-71, 1970.
4. Chapman, H. D. Drug resistance in coccidia: recent research. In: *Research in avian coccidiosis*. McDougald LR, Joyner LP and Long PL eds. Proc Georgia Coccidiosis Conference, Athens, Ga. pp.

- 330–347, 1986.
5. Cover, M. S. Coccidiosis: introduction to design and execution of floor-pen experiments. *Exp Parasitol* 28 : 63, 1970.
 6. McDougald, L. R., L. Fuller and J. Solis. Drug-sensitivity of 99 isolates of coccidia from broiler farms. *Avian Dis* 30 : 690–694, 1986.
 7. Mitrovic, M and E. G. Schildknecht. Anticoccidial activity of lasalocid (X537A) in chicks. *Poult Sci* 53 : 1448–1455, 1974.
 8. Reid, W. M. History of avian medicine in the United States. X. Control of Coccidiosis. *Avian Dis.* 34 : 509–525, 1990.
 9. Reid W. M., P. L. Long and L. R. McDougald. Coccidiosis. In Hofstad ed. *Disease poultry*. 8th ed. Iowa State University, Ames, USA. p. 692 – 717, 1984.
 10. Rosner B. Hypothesis testing: Categorical data. In Rosner B. ed *Fundamentals of biostatistics*. 2nd ed. PWS Publishers, Boston, MA, USA. p 302–368, 1986a.
 11. Rosner B. Analysis of variance. In Rosner B. ed *Fundamentals of biostatistics*. 2nd ed. PWS Publishers, Boston, MA, USA. p 442 – 489, 1986b.

Isolation of Coccidia and Drug Susceptibility Test in Chicken

S. J. Chen*, Y. S. Wu, S. C. Yang

Taiwan Animal Health Research Institute. Taiwan, R. O. C.

SUMMARY Eight strains of coccidia were isolated from the fields with coccidiosis. Six strains of them were *Eimeria tenella*, and 2 other strains were unknown species. Six anticoccidial drugs, including amprolium (120 ppm), lasalocid (75 ppm), maduramicin (5 ppm), nicarbazin (125 ppm), salinomycin (60 ppm) and Esb3 (150 ppm) were tested for their efficacy in preventing coccidiosis in SPF chickens infected with 3 strains of *E. tenella*. The results indicate that one strain is resistant to all the drugs tested and another 2 strains is sensitive variably only to nicarbazin, amprolium and Esb3. In conclusion, some of the field isolates of coccidia in Taiwan are resistant to anticoccidial drugs.

Key words: *Coccidiosis Drug Susceptibility*